

免疫细胞高效冻存液

使用说明书

一、产品简介

免疫细胞冻存液是一款无血清的细胞冻存液产品。此产品是针对免疫细胞冻存的特殊配方，能大大降低细胞在冻存过程中的损伤，提高细胞复苏后的存活率，能够长期有效维持免疫细胞特性；同时因冻存液批间质量稳定，并已完成细胞药物制剂辅料安全性评价，已支持iNK等药物IND获批。

二、产品信息

表 1: 免疫细胞高效冻存液产品说明

产品信息	货号	规格
免疫细胞高效冻存液	SN-06-1410	50 mL

三、保存条件

- 1 保存温度: 4°C
- 2 有效期: 12 个月

四、冻存免疫细胞

- 1 根据所需冻存的细胞量，标记相应数量的冻存管。
(参考冻存密度: NK 细胞: 1×10^9 cells/20mL/管; PBMC: $1-1.5 \times 10^7$ cells/mL/管)。
- 2 选择处于对数生长期的细胞，按照常用的方法收集细胞于离心管中。
- 3 离心收集细胞 (参考离心条件: $300 \times g$, 离心 10min)。
- 4 吸去上清液，逐滴加入适量免疫细胞冻存液于离心管中，混合均匀，制成细胞混合液。
- 5 将离心管中的细胞混合液分装于已标记完全的冻存管中。
- 6 梯度程序降温:
 - 6.1 将含有细胞悬液的冻存管置于已经 4°C 预冷的程序降温盒中，再将程序降温盒置于 -80°C 冰箱中，24h 后移入液氮罐长期保存 (温度不高于 -135°C)。
 - 6.2 或者使用程序降温仪对冻存管中的细胞悬液按照 $-1^\circ\text{C}/\text{min}$ 进行降温至 -100°C (参考仪器操作说明)，立即置于液氮罐中长期保存 (温度不高于 -135°C)。

五、复苏细胞（NK 为例）

- 1 从液氮罐中取出冻存的细胞，置于干冰上运至细胞间。
- 2 立即放入 37°C 水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
- 3 待冻存管中细胞混合液融化至仅余少量冰块，取出冻存管，消毒后转移至生物安全柜内。
- 4 加入适量完全培养基重悬 NK 细胞，按照合适的接种密度将 NK 细胞接种到培养容器中，加入适量的已预热的新鲜的细胞完全培养基。
(不同工艺体系的 NK 复苏后培养方式请以各自条件为准。)
(PBMC 建议洗涤后离心去上清用培养基重悬后再接种，接种密度 $1-2 \times 10^6$ cells/mL)
- 5 十字摇匀法混匀细胞，置于 37°C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中继续培养。

六、应用（以 NK 为例，PBMC 不适用）

- 1 从液氮罐中取出冻存的细胞，置于干冰上运至细胞间。
- 2 立即放入 37°C 水浴锅中一边摇匀一边快速解冻。
- 3 解冻后可将细胞悬液转移到相应的溶液中制备成悬液，推荐细胞密度在 $2.5-10 \times 10^7$ cells/mL，然后根据实际进行研究使用。